

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Tanaman *Impatiens balsamina* L.

Pacar air (*Impatiens balsamina* L.) adalah tanaman yang berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara namun telah diperkenalkan ke Amerika pada abad ke-19. Tanaman ini merupakan tanaman tahunan yang memiliki berbagai warna pada bunga yaitu berwarna putih, merah, ungu, atau merah jambu. Bentuk bunganya menyerupai bunga anggrek yang kecil. Tinggi tanaman ini bisa mencapai satu meter dengan batangnya yang tebal namun tidak mengayu dan daunnya yang bergerigi tepinya. Pacar air juga dikenal sebagai bunga balsam yang merupakan tanaman semusim, berakar serabut, berbatang basah, bulat, licin, tegak, bercabang, warnanya hijau kekuningan dan biasa ditanam di halaman sebagai tanaman hias atau tumbuhan liar ditempat yang cukup mendapat air dan sinar matahari. Tanaman ini bisa tumbuh di dalam liar dan juga dapat tumbuh tanpa akar, tetapi jika akar dihilangkan maka batang harus dimasukkan ke dalam tempat yang berisi air agar tanaman tetap tumbuh/ tidak mati.

2.1.1 Taksonomi

Sistematika tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dalam taksonomi adalah sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Sub Classis : Dialypetalae
Ordo : Balsaminales
Famili : Balsaminaceae
Genus : *Impatiens*
Spesies : *Impatiens balsamina* L.
(Van Steenis, 2003)



Gambar 2.1 (Tanaman *Impatiens balsamina* L.). (Dokumentasi pribadi)

2.1.2 Nama Daerah

Tanaman Pacar Air mempunyai beberapa nama daerah antara lain :

- Sumatera : lahine (Nias), paru inai (Minangkabau)
 Jawa : pacar cai (Sunda), pacar banyu (Jawa), kimhon (Jakarta)
 Nusa Tenggara : pacar toya (Bali), pacar aik (Sasak)
 (Dalimartha, 2003)

2.1.3 Sinonim

Impatiens cornuta Linn, *Impatiens hortensis* Desf, *Impatiens mutila* D.C, *Balsamina mutila* DC (Dalimartha, 2003). *Balsamina angustifolia* Blume, *Balsamina balsamina* (L.) Huth (inval.), *Balsamina coccinea* DC., *Balsamina cornuta* DC., *Balsamina foeminea* Gaertn., *Balsamina hortensis* Desp., *Balsamina lacca* Medik., *Balsamina minutiflora* Span., *Balsamina mollis* G.Don, *Balsamina odorata* Buch.-Ham. ex D.Don, *Balsamina racemosa* Buch.-Ham. ex D.Don, *Impatiens arcuata* Benth., *Impatiens cornuta* L., *Impatiens eriocarpa* Launert, *Impatiens lobbiana* Turcz., *Impatiens longifolia* Wight, *Impatiens malayensis* Griff., *Impatiens rosea* Lindl., *Impatiens stapfiana* Gilg (Limm, 2014).

2.1.4 Morfologi

Pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) merupakan tanaman semusim, berbatang basah, bulat berbuku, licin, tegak, tinggi 30-80 cm, bercabang, warnanya hijau kekuningan (Steenis et al., 2008). Biasa ditanam di halaman sebagai tanaman

hias atau tumbuh liar di tempat yang cukup mendapat air dan sinar matahari. Daun tumbuh spiral, bertangkai, bentuk lanset memanjang, panjang 6-15 cm. lebar 2-3 cm, tepi bergerigi tajam, ujung dan pangkal runcing, pertulangan menyirip, warna hijau muda. Bunga tumbuh tunggal, berkumpul, keluar dari ketiak daun, memiliki tangkai bunga pendek, warnanya cerah (ada yang merah, orange, ungu, putih, dan sebagainya). Sepal 2 berbentuk bulat telur disertai rambut halus di beberapa titik. Buahnya buah kendaga, berbentuk telur, elips, berambut, berwarna hijau, bila masak akan pecah menjadi 5 bagian yang terpilin (Steenis et al., 2008). Bijinya bulat, kecil, hitam (Wijayakusuma, 1999).

2.1.5 Habitat dan Distribusi Geografis

Impatiens balsamina dikenal dunia dengan sebutan bunga balsam. Di Indonesia lebih dikenal dengan nama pacar air, merupakan salah satu spesies dari familia *Balsaminaceae* yang berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara ada juga yang menyebutnya dari India (Heyne, 1987). Namun tanaman ini di perkenalkan ke Amerika sekitar abad 19. Tumbuhan ini berupa herba yang tingginya ± 80 cm, memiliki bunga yang beragam yaitu berwarna putih, merah, ungu atau merah jambu dan biasanya digunakan sebagai tanaman hias yang bisa ditanam di halaman rumah (Heyne, 1987), kadang-kadang ditemukan tumbuh liar. Perkembang biakannya dengan biji (Hutapea, 1994).

2.1.6 Kandungan Kimia Pacar Air

Pacar air mengandung zat-zat kimia aktif seperti pada bunga mengandung flavonoid, antosianin, sianidin, delphinidin, pelargonidin, malvidin, kaempferol, dan quercetin (Klein dan Hagen, 1961). Biji mengandung saponin dan kandungan minyak seperti γ -spinasterol, β -ergosterol, balsaminasterol, parianarik acid, quersetin, naphthaquinon, minyak terbang, dan turunan kaempferol. Sedangkan akar mengandung sianidin mono-glikosida (Dalimartha, 2003). Pada akar mengandung dua turunan kumarin (skopoletin dan isofraxidin) dan sterol (spinasterol) (Panichayupakaranant et al. 1995). Berdasarkan hasil penelitian Adfa (2007) dari uji pendahuluan metabolit sekundernya daun pacar air mengandung flavonoid, kuinon, saponin dan steroid. Isolasi dari daun didapatkan hasil 2-Methoxy-1,4-naphthoquinone (Ding et al. 2008), lawsone, lawsone metil eter dan methylene-3,3'-bilawsone (Sakunphueak dan Panichayupakaranant 2010b, 2012).

Hasil isolasi dari batang didapatkan dua tetrahydronaphthalene baru, 1α , 2α -diol- 4α -etoksi-1, 2, 3, 4-tetrahydronaftalen (1) dan 1α , 2α , 4β -triol-1, 2, 3, 4-tetrahydronaftalen (2) (Chen et al., 2010).

2.1.7 Manfaat dan Efek Farmakologis

Salah satu tanaman di Indonesia yang dapat dimanfaatkan adalah pacar air (*Impatiens balsamina* L.). Semua bagian dari pacar air ini dapat digunakan untuk berbagai macam penyakit. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan tanaman ini mempunyai aktivitas farmakologis yaitu ekstrak bunga pacar air dapat menangkap radikal bebas/ sebagai antioksidan (Su et al. 2012). Sebuah studi percobaan menggunakan metode in-vitro menyimpulkan bahwa ekstrak daun pacar air yang mengandung etanol/kloroform mempunyai aktivitas antitumor terhadap hepatoseluler manusia HepG2 garis sel karsinoma (Ding et al. 2008). Ekstrak tanol biji pacar air menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Bacillus anthracis* (Jain, 2011), sementara senyawa naphthoquinones yang diisolasi dari daun balsam, lawsone metil eter menunjukkan aktivitas antimikroba tertinggi (Sakunphueak dan Panichayupakaranant 2012). 35% Ekstrak etanol kelopak bunga pacar air menunjukkan efek antianafilaktik (Ishiguro et al. 2002). Hasil senyawa yang diisolasi dari mahkota daun pacar air selektif menghambat siklooksigenase (COX-2) secara signifikan (Oku and Ishiguro 2002). Turunan Dinaphthofuran-7,12-dion bernama balsaminones A dan B dan naphthoquinone 2-metoksi-1,4 yang diisolasi dari kulit buah pacar air menunjukkan aktivitas antipruritic yang signifikan (Ishiguro et al. 1998). Ekstrak metanol bunga pacar air menunjukkan antinosiseptik kuat, tergantung dosis yang diberikan pada tikus percobaan (Imam et al. 2012). Kaempferol yang diisolasi dari ekstrak methanol bunga pacar air menunjukkan aktivitas dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan ID 50 of 0.042 mM (Lim et al. 2006).

Sementara Penelitian lain memperoleh hasil yaitu, biji pacar air memiliki efek farmakologis meluruhkan haid (parturifasien), dan mengobati kanker saluran pencernaan bagian atas (Hariana, 2013). Sedangkan akarnya berfungsi untuk mengatasi rematik, leher kaku dan sakit pinggang (Dalimartha, 2003). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Adfa (2007) menjelaskan bahwa, bagian dari daun pacar air ternyata efektif untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah karena

senyawa tersebut berperan pada peningkatan jumlah kolesterol baik atau biasa disebut HDL (high density lipoprotein). Selain itu fungsi daun pacar air, diantaranya mengobati keputihan (leucorrhoea), nyeri haid (dysmenorrhoea), radang usus buntu kronis (chronic appendicitis), antiradang (anti-inflamasi), tulang patah atau retak (fraktur), mengurangi rasa nyeri (analgesik), bisul (furunculus), radang kulit (dermatitis), dan radang kuku. Contoh Senyawa metabolit Sekunder, yaitu:

1) Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam (Kristanti, 2008). Dalam tumbuhan flavonoid pada umumnya merupakan pigmen-pigmen yang tersebar luas dalam bentuk senyawa glikon dan aglikon. Flavonoid-flavonoid yang terdapat di alam antara lain adalah flavon, isoflavon, antosianin, leuko-antosianin, dan kalkon (Rusdi, 1988).

Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, serta sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus, dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungi penyerangnya. Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologi tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional (Kristanti, 2008).

Sifat fisika dan kimia senyawa flavonoid antara lain adalah larut dalam air, sedangkan dalam bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter. Sebagai glikosida maupun aglikon, senyawa flavonoid tidak dapat larut dalam petroleum eter. Dari tumbuhan, glikosida dapat ditarik dengan pelarut organik yang bersifat polar (Rusdi, 1988).

Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon dan digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆. Artinya,

kerangkakarbonnya terdiri atas dua gugus C₆ yang dihubungkan dengan rantai alifatik tiga karbon. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu 1,3-diarilpropan atau neoflavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavon, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid.

Salah satu kelas yang banyak tersebar dari senyawa fenolat adalah flavonoid. Golongan senyawa ini memberikan warna pada buah dan bunga dan flavonoid telah banyak dikarakterisasi dan digolongkan berdasarkan struktur kimianya (Bylka, Matlawaska dan Pilewski, 2004). Flavonoid adalah senyawa fenolat terhidroksilasi (Cowan, 1999) dan merupakan senyawa C₆-C₃-C₆ dimana C₆ diganti dengan cincin benzene dan C₃ adalah rantai alifatik yang terdiri dari cincin piran. Flavonoid dibagi menjadi 7 tipe yaitu flavon, flavonol, flavonon, khalkon, xanton, isoflavon, dan biflavon (Bylka, *et al.* 2004). Contoh senyawa flavonoid yang mempunyai aktivitas antijamur antara lain xanthon dan euxanthon yang diisolasi dari kulit buah *Garcinia mangostana* terhadap jamur *Fusarium oxysporum vasinfectum*, *Alternaria tenuis*, dan *Dreschiera oryzae*. Xanthon alami mempunyai aktivitas penghambatan yang baik terhadap ketiga jamur tersebut (Gopalakrishnan, Banumathi, and Suresh, 1997).

Banyak tanaman obat yang mengandung komponen flavonoid yang digunakan untuk terapi penyakit sirkulasi, mengurangi tekanan darah, dan anti alergi. Efek farmakologi dari flavonoid yang berhubungan dengan kemampuan flavonoid untuk bekerja sebagai anti oksidan yang kuat penangkap radikal bebas, membentuk khelat dengan logam dan berinteraksi dengan enzim (Bylka *et.al* 2004). Flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi mikroba, jadi secara *in vitro* flavonoid efektif sebagai substansi antijamur antimikroba yang membunuh banyak mikroorganisme. Kemungkinan aktivitasnya dikarenakan kemampuan flavonoid membentuk ikatan dengan protein terlarut dan dinding sel bakteri, semakin lipofilik suatu flavonoid semakin merusak membrane mikroba (Cowan, 1999).

2) Terpenoid

Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terbesar dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut, dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya, terpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester, dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri.

Terpenoid adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen, atau karbon, hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatis. Terpenoid merupakan senyawa – senyawa yang mudah menguap terdiri dari 10 atom C dan penyusun minyak atsiri (Achmad, 1986). Terpenoid dengan titik didih yang lebih tinggi disusun oleh diterpen (C_{20}), triperten (C_{30}), dan tetraterpen (C_{40}) dengan penambahan atom oksigen (Achmad, 1986 dan Cowan, 1999).

Senyawa terpenoid tersusun atas karbon-karbon dengan jumlah kelipatan atom lima. Diketahui juga bahwa sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C_5 yang disebut unit isoprene (Kristanti, 2008). Senyawa terpenoid terdiri atas beberapa unit isoprene, mempunyai struktur siklik dengan satu atau lebih gugus fungsional berupa gugus hidroksil dan gugus karbonil (Rusdi, 1988).

Secara kimia terpenoid larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya terpenoid diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan memakai eter atau kloroform, dan dapat dipisahkan secara kromatografi pada silika gel atau alumina menggunakan pelarut eter atau kloroform (Harborne, 1996). Kebanyakan peneliti berpendapat bahwa fungsi terpenoid rendah dalam tumbuhan, lebih bersifat ekologi daripada fisiologi. Banyak senyawa ini yang menghambat pertumbuhan tumbuhan pesaingnya dan dapat bekerja sebagai insektisida atau berdaya racun terhadap hewan tinggi (Robinson, 1995). Contoh senyawa yang termasuk terpenoid dapat dilihat pada Gambar 4. Salah satu senyawa terpenoid yang mempunyai aktivitas antijamur adalah (R)-6-[(Z)-1- heptenil]-5,6-dihidro-

2H-piran-2-one yang diisolasi dari *Hyptis ovalifolia* Benth. Senyawa ini menunjukkan aktivitas antijamur secara *in vitro* terhadap *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton mentagrophytes*, dan *Tricophyton rubrum*.

3) Antrakuinon

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil yang berkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbo-karbon. Untuk tujuan identifikasi kuinon dapat dibagi atas empat kelompok yaitu : benzokuinon, naftokuinon, antrakuinon dan kuinon isoprenoid. Tiga kelompok pertama biasanya terhidroksilasi dan bersifat fenol serta mungkin terdapat dalam bentuk gabungan dengan gula sebagai glikosida atau dalam bentuk kuinol (Harborne, 1987).

Golongan kuinon alam terbesar terdiri atas antrakuinon dan keluarga tumbuhan yang kaya akan senyawa jenis ini adalah Rubiaceae, Rhamnaceae, Polygonaceae (Robinson, 1995). Antrakuinon terhidroksilasi tidak sering terdapat dalam tumbuhan secara bebas tetapi sebagai glikosida. Semua antrakuinon berupa senyawa kristal bertitik leleh tinggi, larut dalam pelarut organik basa. Senyawa ini biasa berwarna merah, tetapi yang lainnya berwarna kuning sampai coklat, larut dalam larutan basa dengan membentuk warna violet merah.

Bentuk senyawa antrakuinon dalam tumbuhan masih rumit karena prazat aslinya mudah terurai oleh enzim atau cara ekstraksi yang tidak sesuai, sehingga laporan mengenai adanya antrakuinon bebas harus dipertimbangkan dengan hati-hati. Banyak antrakuinon yang terdapat sebagai glikosida dengan bagian gula terikat dengan salah satu gugus hidroksil fenolik (Robinson, 1995). Pada saat mengidentifikasi pigmen dari tumbuhan baru, harus diingat bahwa hanya sedikit saja antrakuinon yang terdapat secara teratur dalam tumbuhan. Yang paling sering dijumpai ialah emodin, sekurang-kurangnya terdapat dalam enam suku tumbuhan tinggi dan dalam sejumlah fungus (Harborne, 1987).

4) Saponin

Pembentukan busa yang lama pada waktu ekstraksi atau ekstrak tanaman yang pekat menunjukkan adanya saponin (J. Poither, 2000). Saponin mempunyai bagian utama berupa turunan triterpen dengan sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh satu gugus-OH biasanya C₃-OH dari aglikon (*monodesmoside saponin*) dan jarang dengan dua gugus OH atau satu gugus OH dan gugus karboksil (*bis-desmoside saponin*) (Wagner, 1984).

Awalnya diberi nama saponin, karena sifatnya yang menyerupai sabun (bahasa Latin *sapo* berarti sabun). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa, jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dalam larutan yang sangat encer, saponin sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba juga (Robinson, 1995). Contoh senyawa saponin yang dapat bertindak sebagai antijamur antara lain 3-O- α -L-arabinopiranosil hederagenin 28-O- α -L-rhamnopiranosil ester. Dikenal ada dua jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter. Contoh senyawa yang termasuk saponin antara lain asam glisiretat dan soyasapogenol A.

Saponin mempunyai efek membranolitik yaitu membentuk kompleks dengan kolesterol di membran sel protozoa (P.R. Cheeke, 2000). Saponin mempunyai efek antibakteri dan antijamur yang bagus. Efek antijamur dan antibakteri terganggu dengan adanya gugus monosakarida dan turunannya. Saponin dapat berfungsi sebagai detergen. Detergen memiliki struktur yang dapat berikatan dengan molekul hidrofilik dan molekul - molekul organik non polar (lipofilik) sehingga mampu merusak membran sitoplasma dan membunuh bakteri (Cheeke, 2000).

2.2 Tinjauan *Candida albicans*

Candida spp dikenal sebagai fungi dimorfik yang secara normal ada pada saluran pencernaan, saluran pernafasan bagian atas dan mukosa genital pada mamalia (Brown *et al.*, 2005). Kemampuannya untuk tumbuh baik pada suhu 37°C memungkinkannya untuk tumbuh pada sel hewan dan manusia. Di dalam tubuh manusia *Candida albicans* hidup sebagai saprofit, dan dapat berubah menjadi patogen bila terdapat faktor resiko seperti menurunnya imunitas, gangguan endokrin, terapi antibiotik dalam jangka waktu lama, perokok dan kemoterapi. *C. albicans* merupakan fungi oportunistik penyebab sariawan (Kumamoto dan Vines, 2004), lesi pada kulit (Bae *et al.*, 2005), vulvovaginitis (Wilson, 2005), candida pada urin (candiduria) (Kobayashi *et al.*, 2004), gastrointestinal candidiasis yang dapat menyebabkan *gastric ulcer* (Brzozowski *et al.*, 2005), atau bahkan dapat menyebabkan komplikasi kanker (Dinubile *et al.*, 2005). Infeksi candida sering menjadi penyebab komplikasi yang fatal pada kasus transplantasi organ. Di London, 40,5% terkena infeksi jamur pasca transplantasi hati dan 66% disebabkan oleh *Candida albicans* (Verma *et al.*, 2005). Selain itu infeksi candida juga dapat menyebabkan kematian. Sebuah Rumah Sakit di Spanyol meneliti dari 345 kasus candidemia 44% yang mengalami kematian sebanyak 51% disebabkan oleh *Candida albicans* (Almirante *et al.*, 2005).

Sementara itu, di Jerman angka kematian akibat necrosectomy yang diikuti oleh infeksi jamur termasuk *Candida* mencapai 62% (Kujath *et al.*, 2005). Diagnosis laboratorium dan pengobatan terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Candida albicans* belum memberikan hasil yang memuaskan (Ellepola and Morrison, 2005). Resistensi terhadap antifungi juga sering terjadi (Ha dan Whitte, 1999). Beberapa usaha dilakukan untuk memperbaiki perangkat diagnosis dan metode pengobatan. Salah satu pendekatan yang dilakukan adalah dengan memahami mekanisme infeksi *C. albicans*.

2.2.1 Taksonomi

Taksonomi dari *Candida albicans* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Division	: Thallophyta

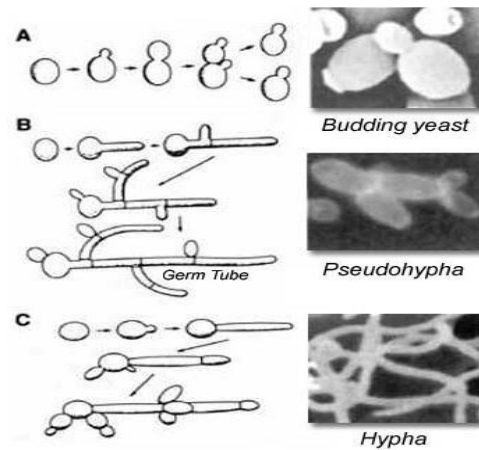
Subdivision	: Fungi
Class	: Deuteromycetes
Order	: Moniliales
Family	: Cryptococcaceae
Genus	: Candida
Species	: Candida albicans

(Waluyo, 2004)

2.2.2 Morfologi dan Sifat

Candida albicans (*C. albicans*) adalah suatu sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5 \mu \times 3-6 \mu$ hingga $2-5,5 \mu \times 5-28 \mu$. Menghasilkan pseudomiselium baik dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat. Ragi ini sebenarnya adalah anggota flora normal kulit, membran mukosa saluran pernafasan, pencernaan, dan genitalia wanita. Di tempat-tempat ini, ragi dapat menjadi lebih banyak/dominan dan menyebabkan keadaan-keadaan patologik (Jawetz et al., 1995). *Candida albicans* memiliki dua jenis morfologi yaitu seperti khamir dan hifa (Dumilah, 1992). Ia bersifat dimorfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa, ia juga bisa menghasilkan hifa sejati (Brooks et al, 2007). *Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang hingga membentuk hifa semu.

Pertumbuhan secara optimum terjadi pada pH normal atau alkali (Biswas dan chaffin, 2005). Serta dapat tumbuh dengan cepat pada temperatur yang berkisar $25-37^{\circ}\text{C}$ (Babic dan Hukic, 2010). *Candida albicans* merupakan monomorphik yeast dan yeast like organism yang tumbuh baik pada suhu $25-30^{\circ}\text{C}$ dan $35-37^{\circ}\text{C}$ (Larone, 1986). Pada media Sabaroud dextrose agar atau glucose-yeast extract-peptone water *C. albicans* berbentuk bulat atau oval yang biasa disebut dengan bentuk khamir dengan ukuran $(3,5-6) \times (6-10) \mu\text{m}$. Koloni berwarna krem, agak mengkilat dan halus. Pada media cornmeal agar dapat membentuk clamydospore dan lebih mudah dibedakan melalui bentuk pseudomycelium (bentuk filamen). Pada pseudomycelium terdapat kumpulan blastospora yang bisa terdapat pada bagian terminal atau intercalary (LODDER, 1970).



Gambar 2.2 Ilustrasi morfologi *Candida* .(a) bentuk khamir, (b) bentuk pseudohifa, (c) bentuk hifa (dikutip dari Hendriques)

Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik. Dinding sel berperan pula dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenic. Fungsi utama dinding sel tersebut adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. *Candida albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks tebalnya 100 sampai 400 nm. Komposisi primer terdiri dari glucan, manan dan khitin. Manan dan protein berjumlah sekitar 15,2-30% dari berat kering dinding sel, 1-3-D-glukan dan 1,6-D-glukan sekitar 47-60% khitin sekitar 0,6-9%, protein 6-25% dan lipid 1-7% dalam bentuk ragi, kecambah dan miselium, komponen-komponen ini menunjukkan proporsi yang serupa tetapi bentuk miselium memiliki khitin tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan ragi. Dinding sel *Candida albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda (Tjampakasari, 2006).

2.2.3 Faktor Virulensi

Berbagai faktor virulensi terlibat dalam patogenesis *Candida albicans*. Peran kunci dimainkan oleh dinding sel dan protein yang disekresikan. Permukaan sel *Candida albicans* adalah titik kontak pertama dengan hospes, dan berperan penting dalam *adhesi*, *kolonisasi*, dan *imunomodulasi*. Dinding sel *Candida albicans* merupakan sebuah struktur elastis yang menyediakan perlindungan fisik dan dukungan osmotik, serta menentukan bentuk sel. Dinding sel adalah mediator utama interaksi antara sel jamur dan substrat hospes. Interaksi ini mengakibatkan terjadinya proses *adhesi* ke jaringan hospes dan diperkirakan sebagai salah satu

faktor virulensi penting dalam perkembangannya menjadi organisme patogen (Bates dan Rosa, 2006).

Faktor virulensi lainnya adalah sifat dimorfik *Candida albicans*, bahkan sebagian peneliti menyatakan sifatnya yang polimorfik. Dua bentuk utama *Candida albicans* adalah bentuk ragi dan bentuk pseudohifa yang juga disebut sebagai miselium. Dalam keadaan patogen, *Candida albicans* lebih banyak ditemukan dalam bentuk miselium atau filamen dibandingkan bentuk spora. Bentuk hifa mempunyai virulensi yang lebih tinggi dibandingkan bentuk spora karena ukuran yang lebih besar sehingga sulit untuk difagositosis oleh sel makrofag (Pereira dan Tatiana, 2008).

2.2.4 Patogenesis dan Patologi

Kandidiasis/yeast infection adalah infeksi jamur yang terjadi karena adanya pembiakan jamur secara berlebihan, dimana dalam kondisi normal muncul dalam jumlah yang kecil. Salah satu penanda invasi *C. albicans* adalah perubahan khamir ke dalam bentuk hifa (filamen). Perubahan bentuk khamir ke hifa sangat dipengaruhi oleh lingkungan mikro sel inang yang terdeteksi oleh *C. albicans* selama proses invasi (Brown dan Gow, 1999). Kemampuan untuk berubah morfologi merupakan faktor penting dalam menentukan infeksi dan penyebaran *C. albicans* pada jaringan inang. Mutan *C. albicans* yang tidak pathogen tidak dapat membentuk hifa dan menginvasi sel endothelium sementara *C. albicans* yang patogen dapat membentuk *germ tube* dan hifa intraseluler (Jong *et al.*, 2001).

Bentuk khamir membuat *C. albicans* lebih mudah melakukan penyebaran daripada bentuk hifa sementara bentuk hifa memudahkan *C. albicans* melakukan penetrasi ke tubuh inang (Sherwood *et al.*, 1992; Lo *et al.*, 1997). Bentuk hifa terdiri dari bagian-bagian yang dipisahkan oleh septa. Hifa *C. albicans* mempunyai kepekaan untuk menyentuh sehingga akan tumbuh sepanjang lekukan atau lubang yang ada di sekitarnya (sifat thigmotropisme). Sifat ini yang mungkin membantu dalam proses infiltrasi pada permukaan epitel selama invasi jaringan. Hifa juga bersifat aerotropik dan dapat membentuk helix apabila mengenai permukaan yang keras. Kemampuan pembentukan hifa juga berhubungan dengan resistensi. Isolat yang resisten tetap dapat membentuk hifa dalam lingkungan yang mengandung antifungi.

Kemampuan suatu mikroorganisme untuk mempengaruhi lingkungannya diantaranya tergantung pada kemampuannya untuk membentuk suatu komunitas. *C. albicans* membentuk komunitasnya dengan membentuk ikatan koloni yang disebut biofilm (Nobile dan Mitchell, 2005). Menurut Mukherjee *et al.*, (2005) biofilm merupakan koloni mikroba (biasanya penyebab suatu penyakit) yang membentuk matrik polimer organik yang dapat digunakan sebagai penanda pertumbuhan mikroba. Biofilm tersebut dapat berfungsi sebagai pelindung sehingga mikroba yang membentuk biofilm biasanya mempunyai resistensi terhadap antimikroba biasa atau menghindari dari sistem kekebalan sel inang. Berkembangnya biofilm biasanya seiring dengan bertambahnya infeksi klinis pada sel inang sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor virulensi dan resistensi. Pembentukan biofilm dapat dipacu dengan keberadaan serum dan saliva dalam lingkungannya (Nikawa *et al.*, 1997). Faktor lain yang mempengaruhi pembentukan biofilm *C. albicans* diantaranya adalah, ketersediaan udara. Ketersediaan udara akan mendukung pembentukan biofilm. Pada kondisi anaerob, *C. albicans* dapat membentuk hifa tetapi tidak mampu membentuk biofilm (Biswas dan Chaffin, 2005). Pemberian antifungi pada awal pembentukan biofilm sangat menentukan terjadinya resistensi (Mukherjee dan Chandra J, 2004).

Perubahan aktivitas ketidakseimbangan hormonal menyebabkan jumlah *Candida* berlipat ganda sehingga muncul gejala Kandidiasis (Mahon dan Manuselis, 2000). Keadaan lain yang menyebabkan Kandidiasis adalah penyakit menahun, seperti gangguan imun yang berat, AIDS, diabetes, dan gangguan tiroid, pemberian obat kortikosteroid dan sitostatika (Vandepitte *et al.*, 2003). Paparan terhadap air yang terus menerus seperti yang terjadi pada tukang cuci, kencing pada pantat bayi, keringat berlebihan terutama pada orang gemuk (Suprihatin, 1982), (Mahon dan Manuselis, 2000). Faktor lokal atau sistemik juga dapat memengaruhi invasi *Kandida* ke dalam jaringan tubuh (Sudoyo *et al.*, 2009). Usia merupakan salah satu faktor penting yang sering kali menyebabkan kandidiasis oral/*oral thrush* (Vandepitte *et al.*, 2003) terutama pada neonates (Suprihatin, 1982). Perempuan dengan kehamilan trimester ketiga cenderung untuk mengalami kandidiasis vulvovaginal (Mahon dan Manuselis, 2000).

2.3 Tinjauan Umum Infeksi

Secara klinik infeksi jamur dapat digolongkan menurut lokasi infeksi. Yaitu, infeksi jamur sistemik, dermatofi dan mikosis mukutan (Unsri, 2004). Kandidiasis merupakan infeksi jamur sistemik yang paling sering dijumpai yang terjadi bila *C. albicans* masuk ke dalam aliran darah terutama ketika ketahanan fagositik host menurun (Forbes, 2007). Candida dapat menyerang berbagai jaringan tubuh. Prevalensi kandidiasis salah satunya yaitu kandidiasis vaginitis, terjadi pada sekitar 90% wanita di Indonesia. Infeksi tersebut dapat terjadi karena negara Indonesia merupakan daerah yang beriklim tropis, sehingga jamur mudah tumbuh dan berkembang yang mengakibatkan banyaknya kasus kandidiasis vaginitis pada wanita Indonesia. Remaja putri mempunyai resiko infeksi kandidiasis yang lebih tinggi dimana 31,8% terjadi pada usia 15-24 tahun (Badaryati, 2012). Kandidiasis mukokutan pada orang dengan HIV-AIDS/ODHA merupakan salah satu indikator progresivitas HIV dapat muncul dalam tiga bentuk, yaitu kandidiasis vulvovagina, orofaring, dan esofagus (belum digolongkan infeksi oportunistik kecuali jika sudah mengenai esofagus) (Budimulja et al., 2004).

Kandidiasis orofaring dikenal dengan tiga bentuk yaitu pseudomembran, eritematosa, dan *cheilitis angularis*. Kandidiasis pseudomembran mempunyai gejala berupa rasa terbakar, gangguan mengecap, dan sulit menelan makanan padat atau cair. Kandidiasis eritematosa berupa plak kemerahan halus di palatum mukosa bukal, atau permukaan dorsal lidah. *Cheilitis angularis* tampak berupa kemerahan, fisura, atau keretakan di sudut bibir. Kandidiasis esofagus biasanya muncul disertai kandidiasis orofaring (80% kasus), dengan gejala klinis berupa disfagia, odinofagia, atau nyeri retrosternum, juga dapat tidak menunjukkan gejala (40% kasus) (Mahon dan Manuselis, 2000)

2.4 Terapi

Pada saat ini, penemuan obat-obat anijamur yang baru telah berkembang dengan pesat, baik yang berbentuk topical maupun sistemik, dan diharapkan prevalensi penyakit infeksi jamur dapat berkurang. Untuk pengobatan infeksi kandidiasis mulut dan mukokutan dapat diobati dengan nistatin topikal, gentianviolet, ketokonazol, dan flukonazol (Sudjana, 2008). Kandidiasis pada daerah yang mengalami maserasi, memperlihatkan respons terhadap upaya untuk

mengurangi kelembaban kulit dan iritasi (Greenwood et al., 2007) dengan pemakaian preparat antifungi yang dioleskan secara topikal dalam bahan dasar nonoklusif (Vandepitte et al., 2003). Kandidiasis vulvovaginitis memberikan respons yang lebih baik terhadap golongan azol, seperti klotrimazol, mikonazol, ekonazol, ketokonazol, sulkonazol, dan oksinazol merupakan obat pilihan untuk *C. albicans* yang dipakai sebagai krim atau losion (Budimulja, 2004).

2.5 Tinjauan Tentang Antijamur

Menurut indikasi klinis obat-obat antijamur dapat dibagi atas 2 golongan, yaitu:

1. Antijamur untuk infeksi sistemik: Amfoterisin B, Flusitosin, golongan Azol (Ketokonazol, Flukonazol, Mikonazol) dan Hidrosistilbalamine.
2. Antijamur untuk infeksi dermatofit dan mukokutan: griseofulfin, golongan imidazol (mikonazol, klotrimazol, ekonazol, isokonazol, tiokonazol, dan bifonazol), nistatin, tolnaftat, dan antijamur topikal lainnya (kandisidin, asam undesilenat, dannatamisin) (UNSRI, 2004).

2.5.1 Mekanisme Kerja Obat Antijamur

Mekanisme kerja obat antijamur adalah dengan mempengaruhi sterol membran plasma sel jamur, sintesis asam nukleat jamur, dan dinding sel jamur yaitu kitin, β glukukan, dan mannoo protein.

1. Sterol membran plasma : ergosterol dan sintesis ergoster. Ergosterol adalah komponen penting yang menjaga integritas membran sel jamur dengan cara mengatur fluiditas dan keseimbangan dinding membran sel jamur. Kerja obat antijamur secara langsung (golongan polien) adalah menghambat sintesis ergosterol dimana obat ini mengikat secara langsung ergosterol dan channel ion di membrane sel jamur, hal ini menyebabkan gangguan permeabilitas berupa kebocoran ion kalium dan menyebabkan kematian sel. Sedangkan kerja antijamur secara tidak langsung (golongan azol) adalah mengganggu biosintesis ergosterol dengan cara mengganggu demetilasi ergosterol pada jalur sitokrom P450 (demetilasi prekursorergosterol) (Gubbins, 2009).
2. Sintesis asam nukleat Kerja obat antijamur yang mengganggu sintesis asam nukleat adalah dengan cara menterminasi secara dini rantai RNA dan

menginterupsi sintesis DNA. Sebagai contoh obat antijamur yang mengganggu sintesis asam nukleat adalah 5 flusitosin (5 FC), dimana 5 FC masuk ke dalam inti sel jamur melalui sitosin permease. Di dalam sel jamur 5 FC diubah menjadi 5 fluoro uridin trifosfat yang menyebabkan terminasi dini rantai RNA. Trifosfat ini juga akan berubah menjadi 5 fluoro deoksiuridin monofosfat yang akan menghambat timidilat sintetase sehingga memutus sintesis DNA (Gubbins, 2009).

3. Unsur utama dinding sel jamur : glukans Dinding sel jamur memiliki keunikan karena tersusun atas mannoproteins, kitin, dan α dan β glukans yang menyelenggarakan berbagai fungsi, diantaranya menjaga rigiditas dan bentuk sel, metabolisme, pertukaran ion pada membrane sel. Sebagai unsur penyangga adalah β glukans. Obat antijamur seperti golongan ekinokandin menghambat pembentukan β 1,3 glukans tetapi tidak secara kompetitif. Sehingga apabila β glukans tidak terbentuk, integritas struktural dan morfologi sel jamur akan mengalami lisis (Gubbins, 2009).
4. Penghambatan kerja enzim: setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada didalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyaknya zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Plezcarr dan Chan, 1988)

2.5.2 Obat antijamur

Obat antijamur golongan azol seperti klotrimazol, ketokonazol, ekonazol, oksikonazol, sulkonazol dan mikonazol mempunyai kemampuan mengganggu kerja enzim sitokrom P-450 lanosterol 14-demetilase yang berfungsi sebagai katalisator untuk mengubah lanosterol menjadi ergosterol (Brennan et al., 1997). Pengobatan pada kandidiasis terdiri atas lini pertama dan pengobatan lini kedua. Pengobatan kandidiasis oral lini pertama yaitu:

1) Nistatin

Nistatin merupakan obat lini pertama pada kandidiasis oral yang terdapat dalam bentuk topikal. Obat nistatin tersedia dalam bentuk krim dan suspensi oral. Tidak terdapat interaksi obat dan efek samping yang signifikan pada penggunaan obat nistatin sebagai anti kandidiasis.

2) Ampoterisin B

Obat ini dikenal dengan Lozenge (fungilin 10 mg) dan suspensi oral 100 mg/ml dimana diberikan tiga sampai empat kali dalam sehari. Ampoterisin B menghambat adhesi dari jamur candida pada sel epitel. Efek samping pada obat ini adalah efek toksisitas pada ginjal.

3) Klotrimazol

Obat ini mengurangi pertumbuhan jamur dengan menghambat ergosterol. Klotrimazol dikontraindikasikan pada infeksi sistemik. Obat ini tersedia dalam bentuk krim dan tablet 10 mg. Efek utama pada obat ini adalah rasa sensasi tidak nyaman pada mulut, peningkatan level enzim hati, mual dan muntah.

Adapun pengobatan kandidiasis lini kedua yaitu:

1) Ketokonazol

Ketokonazol memblokir sintesis ergosterol pada membran sel fungal dan diserap dari gastrointestinal dan dimetabolisme di hepar. Dosis yang dianjurkan adalah 200-400 mg tablet yang diberikan sekali atau dua kali dalam sehari selama dua minggu. Efek samping adalah mual, muntah, kerusakan hepar dan juga interaksinya dengan antikoagulan.

2) Flukonazol

Obat ini menghambat sitokrom p450 fungal. Obat ini digunakan pada kandidiasis orofaringeal dengan dosis 50-100mg kapsul sekali dalam sehari dalam dua sampai tiga minggu. Efek samping utama pada pengobatan dengan menggunakan flukonazol adalah mual, muntah dan nyeri kepala.

3) Itrakonazol

Itrakonazol merupakan salah satu antifungal spektrum luas dan dikontraindikasikan pada kehamilan dan penyakit hati. Dosis obat adalah 100 mg dalam bentuk kapsul sehari sekali selama dua minggu. Efek samping utama adalah mual, neuropati dan alergi.

2.6 Metode Ekstraksi

2.6.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif

terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Harborne 1987).

2.6.2 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Dirjen POM, 1986).

2.6.3 Jenis Ekstraksi

Secara umum metode ekstraksi dibagi menjadi 2 macam yaitu ekstraksi tunggal dan ekstraksi bertingkat. Ekstraksi tunggal adalah melarutkan bahan yang akan diekstrak dengan satu jenis pelarut. Kelebihan dari metode ini yaitu lebih sederhana dan tidak memerlukan banyak waktu, tetapi rendemen yang dihasilkan hanya sedikit. Adapun metode ekstraksi bertingkat adalah melarutkan bahan atau sampel menggunakan dua atau lebih pelarut. Kelebihan menggunakan metode ekstraksi ini ialah dapat menghasilkan rendemen yang besar dengan senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya. Ekstraksi bertingkat dilakukan secara berturut-turut yang dimulai dengan pelarut non polar berupa kloroform, pelarut semipolar berupa etil asetat dan dilanjutkan dengan pelarut polar seperti etanol atau methanol (sudarmadji et al., 2007).

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan penyulingan uap air dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet (Dirjen POM, 1986).

2.6.4 Cara-cara Ekstraksi

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi diantaranya (Sarker SD, dkk., 2006).

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural. Semua senyawa metabolit sekunder

Semua senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu sumber tetapi tidak dihasilkan oleh sumber lain dengan kontrol yang berbeda, misalnya dua jenis dalam marga yang sama atau jenis yang sama tetapi berada dalam kondisi yang berbeda. Identifikasi seluruh metabolit sekunder yang ada pada suatu organisme untuk studi sidik jari kimiawi dan studi metabolomik. Proses pemisahan dengan cara ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar (Dewi dan Naufal, 2010).

1. Proses penyampuran sejumlah massa bahan ke dalam larutan yang akan dipisahkan komponen – komponennya.
2. Proses pembantuan fase seimbang.
3. Proses pemisahan kedua fase seimbang.

Cara- cara Ekstraksi yaitu (Harbone, 1987; Dirjen POM, 1986).

a. Ekstraksi secara soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Uap penyari akan naik melalui pipa samping, kemudian diembungkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan penyari turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan penyari mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon.

b. Ekstraksi secara perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkulator, ditambahkan cairan penyari. Perkulator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya.

c. Ekstraksi secara maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan

penyari 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan.

d. Ekstraksi secara refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam.

e. Ekstraksi secara penyulingan

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka penyari dilakukan dengan penyulingan

2.7 Tinjauan Pelarut

Jenis dan mutu pelarut yang digunakan sangat menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkan, mempunyai titik didih yang rendah, murah, dan tidak toksik (Ketaren 1986). Sifat penting yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah kepolaran senyawa yang dilihat dari gugus polarnya (gugus OH, COH, dan lainlain). Derajat polaritas tergantung pada tahapan dielektrik, makin besar tahapan dielektrik semakin polar pelarut tersebut (Hafiluddin 2011).

2.7.1 N-heksan

N-heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama n-heksana memiliki rumus $C_3(CH_2)_4CH_3$). Awalan heks-

merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana berasal dari alkana yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air. N-heksana merupakan jenis pelarut non-polar (Kastianti dan Amalia, 2008). N-heksana merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawasenyawa yang bersifat non-polar karena memiliki beberapa keunggulan yang diantaranya adalah bersifat stabil, mudah menguap, selektif, serta menghasilkan jumlah kecil lilin, albumin dan zat warna (Guenther, 1987).

Adapun karakteristik dari n-heksana antara lain:

Nama lain	: caproly hydride, hexyl hydride
Rumus molekul	: C_6H_{14}
Berat molekul	: 86,17 kg/mol
Warna	: berwarna Titik leleh : -94°C Titik didih : 69 (P = 1 atm)
Densitas	: 0,6548 gr/ml
Kelarutan dalam 100 bagian air	: 0,014 (15°C)

2.8 Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenisnya senyawa menjadi fraksi yang berbeda tergantung pada jenis tumbuhan. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar (Harborne 1987). Atau bisa dikatakan Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen dalam suatu ekstrak menjadi kelompok senyawa yang memiliki kemiripan karakteristik secara kimia (Rouessac & Rouessac 2007). Proses fraksinasi biasanya menggunakan kromatografi kolom, dalam pemisahan dengan kromatografi kolom ini suatu pelarut pengelusi akan dialirkan secara kontinu melalui kolom dan komponen demi komponen dari campuran yang pada akhirnya akan keluar dari kolom dapat dikumpulkan.

2.8.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan kromatografi kolom pada prinsipnya sama. Apabila suatu cuplikan yang merupakan campuran dari beberapa komponen yang diserap lemah oleh adsorben akan keluar lebih cepat bersama eluen, sedangkan komponen yang diserap kuat akan keluar lebih lama (Hostettmann, 1995). KLT merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben (Deinstrop, Elke H., 2007).

KLT dapat digunakan jika :

1. Senyawa tidak menguap atau tingkat penguapannya rendah.
2. Senyawa bersifat polar, semi polar, non polar, atau ionik.
3. Sampel dalam jumlah banyak harus dianalisis secara simultan, hemat biaya, dan dalam jangka waktu tertentu.
4. Sampel yang akan dianalisis akan merusak kolom pada Kromatografi Cair (KC) ataupun Kromatografi Gas (KG).
5. Pelarut yang digunakan akan mengganggu penjerap dalam kolom Kromatografi Cair.
6. Senyawa dalam sampel yang akan dianalisis tidak dapat dideteksi dengan metode KC ataupun KG atau memiliki tingkat kesulitan yang tinggi.
7. Setelah proses kromatografi, semua komponen dalam sampel perlu dideteksi (berkaitan dengan nilai R_f).
8. Komponen dari suatu campuran dari suatu senyawa akan dideteksi terpisah setelah pemisahan atau akan dideteksi dengan berbagai metode secara bergantian (misalnya pada *drug screening*).
9. Tidak ada sumber listrik.

KLT digunakan secara luas untuk analisis *solute-solute organic* terutama dalam bidang biokimia, farmasi, klinis, forensik, baik untuk analisis kualitatif

dengan cara membandingkan nilai Rf solut dengan nilai Rf senyawa baku atau untuk analisis kualitatif (Gandjar IG., 2008). Penggunaan umum KLT adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, menentukan efektifitas pemurnian, menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom, serta untuk memantau kromatografi ko-lom, melakukan *screening* sampel untuk obat (Gandjar IG, 2008).

2.9 Uji Potensi Antifungi

Uji potensi antifungi adalah menguji suatu zat yang diduga mempunyai aktivitas antifungi dengan memanfaatkan fungi sebagai indikator pengujian. Kegunaan uji antifungi adalah diperolehnya suatu system pengobatan yang efektif dan efisien (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.10 Uji Kepekaan Antimikroba Secara In-Vitro

Uji kepekaan antimikroba terhadap obat-obatan secara in vitro bertujuan untuk mengetahui obat antifungi yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh suatu jamur. Metode skrining untuk mendeteksi aktivitas antimikroba dari produk alam terbagi dalam tiga kelompok, yaitu metode dilusi, difusi dan bioautografi. Metode difusi dan metode bioautografi dikenal sebagai teknik kualitatif karena metode ini hanya untuk menentukan ada atau tidaknya aktivitas zat antimikroba. Sedangkan metode dilusi merupakan teknik kuantitatif, karena teknik ini dapat menentukan konsentrasi hambat minimum dari zat antimikroba tersebut (Valgas, 2006)

2.10.1 Metode Dilusi

Cara pertama yaitu metode dilusi, cara ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan bahan antimikroba yang telah diencerkan secara serial, kemudian seri tabung diinkubasi pada suhu 37o C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan jamur merupakan konsentrasi hambat minimum). Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat, diinkubasi selama 24 jam, dan diamati ada

tidaknya koloni jamur yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan pada medium padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur adalah merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antimikroba terhadap jamur uji (Tortora et al. 2001).

2.10.2 Metode Difusi Cakram

Metode difusi yang paling sering digunakan adalah metode difusi cakram. Difusi cakram dapat dilakukan dengan cara obat dijenuhkan kedalam kertas saring. Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba uji, Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24jam. Selanjutnya di amati adanya area jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Jawetz, 2005; Dzen et al., 2003). Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring. Untuk mengevaluasi hasil kepekaan tersebut, dapat dilakukan dengan dua cara yaitu:

a. Cara Kirby Bauer

Dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan table standart yang di buat oleh NCCLS (National Commite For Clinical Laboratorr Standart) (Dzen et al., 2003).

b. Cara Joan-Stokes

Dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Untuk cara Joan – Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama – sama dalam satu piring agar (Dzen et al, 2003).

2.10.3 Metode Bioautografi

Bioautografi merupakan metode skrining mikrobiologi yang umum digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antimikroba. Skrining merupakan prosedur pertama, yang dilakukan pada sampel yang akan dianalisis, untuk mengetahui ada atau tidaknya analit yang didapat. Metode skrining ini memberikan sensitivitas yang lebih tinggi daripada metode lainnya.

Metode bioautografi dibedakan menjadi tiga yaitu, bioautografi kontak,

bioautografi imersi atau bioautografi agaroverlay, dan bioautografi langsung. Prinsip bioautografi kontak, plat kromatografi diletakkan pada permukaan agar yang telah di inokulasi mikroba uji selama beberapa menit atau jam sehingga proses difusi dapat terjadi. Plat kromatogram diambil dan media agar diinkubasi. Daerah hambatan ditunjukkan dengan adanya spot antimikroba yang menempel pada permukaan media agar. Pada bioautografi immerse, plat kromatogram dicelup pada media agar, setelah agar memadat ditambahkan microorganism uji lalu diinkubasi. Metode ini merupakan kombinasi dari bioautografi kontak dan langsung, karena senyawa antimikroba ditransfer dari kromatogram ke media agar, seperti dalam metode kontak, tetapi lapisan agar tetap pada permukaan kromatogram selama inkubasi dan visualisasi seperti pada bioautografi langsung (Choma et al., 2010).

Bioautografi langsung merupakan metode bioautografi yang paling banyak digunakan dari semua metode bioautografi. Prinsip dari metode ini adalah plat KLT dicelupkan pada suspensi mikroorganisme kemudian diinkubasi. Visualisasi dari zona ini biasanya dilakukan dengan menggunakan reagen dehidrogenase untuk deteksi aktivitas yang paling umum adalah garam tetrazolium. Dehidrogenase mikroorganisme garam tetrazolium menjadi berwarna, sehingga terlihat spot krem-putih dengan latar belakang ungu pada permukaan plat KLT menunjukkan keberadaan agen antimikroba (Choma et al., 2010)